ACADÉMIE DE PARIS

FACULTÉ de MÉDECINE COCHIN PORT-ROYAL

ANNÉE 19 (1) 1973 **THÈSE** N° _ (2)

145

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Najib DUEDARI

Né le 19 septembre 1945 à ALEP - SYRIE

Présentée et soutenue publiquement le 1973

PREPARATIONS ET INDICATIONS DES DERIVES SANGUINS FRAIS ET CONGELES

Président : M. H. BRICAIRE *Professeur*

I.P.P.A.R. Paris.

(1) Indiquer le millésime de l'année civile au cours de laquelle la thèse a été soutenue.
(2) Le numéro de la thèse sera porté par le service de la Bibliothèque après soutenance.

TRAVAIL DU CENTRE DEPARTEMENTAL DE TRANSFUSION

SANGUINE DES YVELINES-NORD.

Directeur : Docteur Y. CULOT

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549224_0029

A mon Père

Qui m'a transmis son amour de la Médecine
et m'a apporté son inestimable appui
tout au long de mes études.

A ma Mère

Que tous deux trouvent ici l'expression
de ma reconnaissance et de mon affection
profonde.

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A Monsieur le Professeur H. BRICAIRE
Professeur à la Faculté de Médecine COCHIN-PORT-ROYAL
Médecin des Hôpitaux de Paris
Officier de la Légion d'Honneur

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

A Madame le Docteur A. COMBRISSON - LE BOLLOC'H
Maître de Conférences Agrégé à la Faculté de Médecine
Saint-Antoine
Biologiste de l'Hôpital Tenon

Qui nous a inspiré le sujet de cette thèse et permis de la réaliser.

En témoignage de notre sincère reconnaissance et de notre profonde gratitude.

A Monsieur le Docteur Y. CULOT
Directeur du Centre de Transfusion Sanguine
des Yvelines-Nord

Qui a guidé mes premiers pas en hémobiologie
et m'a prodigué son si précieux enseignement.

En témoignage de ma profonde reconnaissance
et de ma respectueuse sympathie.

A Monsieur le Professeur Agrégé ECHTER
En témoignage de ma profonde gratitude

A Monsieur le Docteur SLIOSBERG
En témoignage de ma sincère reconnaissance

A Monsieur le Docteur TESTELIN
En témoignage de ma respectueuse affection

A mes camarades au Centre de Transfusion Sanguine
avec ma chaleureuse sympathie.

A Monsieur R. RIVIERE
Président de l'Amicale des Donneurs de sang bénévoles
de Saint Germain et des environs.

A tous ses collaborateurs, membres de bureau.

A tous les donneurs de sang.

Sans leur concours, ce travail n'aurait pas été réalisé.

A mes Maîtres du centre hospitalier
de Saint Germain en Laye

Monsieur le Docteur P. LARGET
Monsieur le Docteur J. P. LAMARE
Monsieur le Docteur J. L. DANEL
Monsieur le Docteur P. BRETON

Ils m'ont acueilli dans leurs services,
enseigné et conseillé

En témoignage de ma reconnaissance.

INTRODUCTION

"Que je remplisse vos veines d'un sang nouveau". Est-ce que dans ce vers des métamorphoses d'OVIDE, nous pouvions prévoir une pratique transfusionnelle?

Le sang, symbole de la vie, essence des races, conserve toujours son pouvoir magique d'évocation.

Il nous faudrait remonter au XVe siècle, en 1492 exactement afin de suivre la première expérience transfusionnelle. Le Pape Innocent VIII, pour rajeunir, reçut le sang de trois vigoureux. Bilan de l'expérience: quatre morts, dont la sainte personne, et les deux généreux donneurs, saignés à blanc. Le troisième donneur fut exécuté: il sut résister à ce saignement important.

Entre 1616 et 1628, HARVEY explique le mécanisme de la circulation, le rôle du coeur, et l'oxygénation.

Sir Ch. WREN, en 1656 injecte des "liquides médicamenteux et autres choses" dans les veines d'animaux.

Ce n'est qu'en juillet 1658 que le bénédictin Robert DESGABETS (1) assurait qu'outre la circulation de HARVEY, on pouvait provoquer un autre mouvement de sang qu'il appela communication. Il entendait par là "le passage effectif du sang d'un homme sain ou de quelque autre animal dans les veines d'un homme faible ou malade". Il décrivit par la suite la première technique de prélèvement qui correspond, mis à part les agréments pratiques, à la dénudation périphérique de nos jours. Il décrivit également la "bourse", principe de nos appareils de JOUVELET.

Les Drs CLARK et HENSHAW essayèrent de transfuser le sang d'un animal à un autre, ce que réussit le Dr LOWER à Oxford en 1666.

Le 15 juin 1667, le français J. B. DENYS transfuse du sang d'agneau à un adolescent avec succès.

Le 23 novembre de la même année, LOWER pratique également sa première transfusion avec du sang d'agneau.

L'exagération de ces expériences et les accidents nombreux poussèrent le Parlement à prononcer sa sentence du Châtelet le 17 avril 1668, exigeant l'autorisation préalable de la Faculté de Médecine avant chaque expérience transfusionnelle. Ce qui les limita. Elles tombèrent dans l'oubli et la superstition après l'interdiction par le Parlement, en janvier 1670 sous peine de punition corporelle.

L'abandon dura jusqu'au 19ème siècle. En 1825, l'anglais BLUNDELL reprend avec succès les injections de sang humain. C'est la vogue, et des centaines de transfusions sont faites, même avec du sang animal. Les guérisons, inespérées dans certains cas d'hémorragies graves encouragèrent les expérimentateurs. On comprit alors le rôle des transfusions ce qui sauva, durant la guerre civile aux Etats Unis d'Amérique, entre 1861 et 1868, deux blessés graves.

La science arrive au secours de l'empirisme avec les travaux du Belge BORDET en 1896 et l'agglutination croisée entre sérum et hématies d'animaux différents, ce qui expliqua les accidents mortels du passé.

La découverte des systèmes ABO remonte à 1900 avec l'autrichien Karl LANDSTEINER. C'est là que nait la notion du donneur universel du groupe O.

Plusieurs travaux se poursuivirent dans les quatre coins du monde. HUSTIN à Bruxelles en 1914, AGOTE à Buenos Aires, LEWISHON à New York, et JEANBRAU en France.

La découverte faite par P. ROUS et J. R. TURNER (2) en 1916, concernant l'action du citrate et de la dextrose sur l'inhibition de coagulation du sang de lapin, est à la base de nos méthodes actuelles de conservation de sang.

En 1917, quelques blessés furent sauvés par transfusion de sang mélangé à du citrate de soude. Après la guerre, les recherches continuèrent malgré la suspicion. Il faudra attendre la volonté et l'enthousiasme de médecins comme Arnault TZANCK, pour qu'en 1928 l'Oeuvre de la Transfusion Sanguine d'Urgence soit créée à Paris. L'année suivante, 262 transfusions sont pratiquées sans incidents majeurs, et en 1939, 7000 transfusions le sont, par la méthode de "bras à bras".

Le système rhésus fut découvert en 1940 par LANDSTEINER et WEINER aux Etats Unis. Peu après, on explique la maladie hémolytique des nouveau-nés, appelée alors la maladie des cadets.

En 1943, la découverte par les anglo-saxons, LOUTIT et MOLLISON (3) de l'A. C. D. (solution acide, citratée et glucosée) améliorat la technique de conservation du sang. Ils l'imposèrent en Angleterre et bien que la solution ne soit pas la même que celle utilisée actuellement, elle en était assez proche.

Juste après la deuxième guerre mondiale, la fabrication du plasma commença, ainsi que la lyophilisation de ce dernier. Les travaux multiples de E. J. COHN et ses collaborateurs à l'Université de HARVARD, ont eu le mérite d'avoir mis au point une méthode de fractionnement du plasma applicable à une échelle industrielle et pouvant fournir des produits utilisables en thérapeutique humaine. Ils les décrirent en 1946 et en 1949 sous le nom de méthodes 6 et 9 de Cohn. Petit à petit nous pouvions voir apparaître en thérapeutique les solutions de gamma-globulines, d'albumine, et plus tard des produits sanguins tels que les solutions de fibrinogène, le facteur VIII, le PPSB, et toutes les globulines spécifiques.

Jusqu'à ces dernières années, la séparation du plasma se faisait à partir de sang total: les concentrés globulaires, après soustraction du plasma restaient des produits perdus. Hélas, la situation ne s'est pas tellement améliorée, puisqu'on estime, actuellement, à un demi million le nombre de ces concentrés, déchets du fractionnement industriel, inutilisés.

L'introduction de l'usage du plastique dans la pratique transfusionnelle (7) devait être à l'origine, timide au départ, de la préparation des dérivés sanguins frais, en circuit fermé.

Cette préparation n'était pas à envisager avec les flacons pour des raisons de stérilité et de difficultés à l'emploi.

C'est ainsi que nous préparons maintenant des concentrés érythrocytaires, plaquettaires, leucocytaires et des cryoprécipités anti hémophiliques, à partir du même échantillon de sang prélevé chez un seul donneur.

Parallèlement, des progrès scientifiques considérables furent réalisés depuis la guerre. On comprend mieux la physiologie cellulaire et ses mécanismes. Dans le domaine de l'immuno-hématologie, le progrès a été constant: c'est depuis 1946 que l'exanguino-transfusion est pratiquée en France pour le traitement des maladies hémolytiques du nouveau-né. La transfusion intra-utérine fut décrite en 1963 (4), et pratiquée en France à partir de 1964 (5 et 6) ce qui sauva des enfants, jusque là, condamnés.

Plusieurs systèmes de groupes furent découverts: KELL, MN, Ss, P, Lewis, DUFFY, Kidd, Bombay, Luthéran, Diego, Sutter, Ii, Auberger, Yt, Xg, Vel, Ge, HL-A, etc...

Puis tous les travaux scientifiques ont prouvé que la meilleure façon de traiter un anémique était l'injection des globules rouges, un hémophile, celle de la fraction antihémophilique. L'accord est unanime, actuellement, en hématologie, en médecine générale et en chirurgie, pour dire que si l'on veut transfuser correctement un malade, il faut la pratiquer avec le constituant sanguin dont il est déficitaire. Il est donc logique de penser que les transfusions, de nos jours, ne doivent être faites qu'avec des fractions de sang, cellulaires ou plasmatiques.

En pratique, si nous comparions l'évolution de la transfusion à partir de 1943, date du début de la conservation sur ACD pour 21 jours, jusqu'à nos jours, nous aurions deux constatations à faire:

- Le nombre de transfusions a considérablement augmenté: de 7 000 transfusions en 1939, nous passons à plus d'un million de flacons de sang nécessaires par an et pour la région parisienne. Depuis 30 ans, nous doublons de nombre de transfusions tous les cinq ou six ans. Quand on est dans un centre de transfusion, et qu'on connait les demandes constantes des utilisateurs, on ne peut être qu'effrayé, car si les besoins continuent à augmenter, on arrivera à un stade où, fatalement, le nombre des donneurs sera insuffisant.

- Malgré les progrès scientifiques nombreux dans divers domaines, nous constatons une stagnation dans la thérapeutique transfusionnelle; une certaine incohérence entre les auteurs qui écrivent en 1973 que le fait de transfuser du sang total est une ineptie et qu'il faut transfuser des fractions sanguines, et les statistiques toutes récentes sur l'utilisation du sang total conservé. De 100% en 1943, on utilise encore 85% de sang total pour les transfusions.

Il est évident qu'il faut transfuser des fractions sanguines. Nous nous trouvons devant cette situation ambigüe où la quasi totalité des transfusions doivent être faites avec des fractions, et où 85% des transfusions sont faites avec du sang total. Nous ne pouvons pas transfuser le tout et les fractions.

Le but de ce travail est de montrer que toutes les conditions scientifiques et techniques sont réunies pour permettre une attitude transfusionnelle logique.

Dans les chapîtres qui vont suivre, nous allons étudier chacun des dérivés sanguins frais, en montrer la préparation et les indications thérapeutiques pour arriver à la conclusion, qu'à l'heure actuelle, la part réservée au sang total doit être nulle, ou presque nulle. Nous espérons que ce travail ne sera pas inutile, et qu'il contribuera peut-être à l'évolution de la pratique transfusionnelle dans un sens moderne et dans le respect du donneur de sang et du malade.

PLAN

1ère partie: Matériels et méthodes générales.

I Container
II Solution anti-coagulante
III Prélèvement
IV Conservation

2ème partie: Dérivés sanguins frais.

I Concentrés érythrocytaires
- A Définition
- B Préparation et résultats
- C Conservation
- D Rendement
- E Indications cliniques
  Cas particuliers
- F Conclusions

II Concentrés plaquettaires

- A Définition
- B Préparation et résultats
- C Conservation
- D Rendement
- E Indications cliniques
- F Conclusions

III Concentrés leucocytaires

- A Définition
- B Préparation
- C Indications cliniques
- D Conclusions

IV Les cryoprécipités riches en Facteurs VIII, antihémophiliques A.

A Définitions
B Préparation
C Conservation
D Rendement et résultats
E Indications cliniques
F Conclusions

V Le plasma

A Définition
B Préparation
C Conservation
D Utilisation
E Indications cliniques
F Conclusions

VI A propos de l'utilisation des dérivés sanguins frais.

3ème partie: Globules rouges congelés.

I Introduction
II Définition
III Préparation
IV Résultats et rendement
V Les indications cliniques
VI Conclusions

4ème partie: Conclusions

5ème partie: Bibliographie.

PREMIERE PARTIE

MATERIELS, ET METHODES GENERALES

I - CONTAINERS:

Les containers servant à la préparation des dérivés sanguins frais sont les sacs plastiques. Dans notre centre, ce sont des sacs HEMOPACK, fournis par la maison Dubernard, et avec lesquels, nous n'avons pas eu de problème majeur.

En effet, satisfaits des flacons de verre, depuis des decennies, en matière de conservation de sang total, ce n'est qu'avec l'apparition pratique de ces sacs plastiques que nous avons commencé à préparer des dérivés sanguins frais et congelés. L'utilisation des flacons pour cette préparation étant difficile et dangeureuse à cause des risques de contamination bactérienne. La perspective de l'utilisation du plastique est attirante. On peut préparer plusieurs dérivés sanguins à partir du même échantillon de sang, le tout en circuit fermé et sans contact avec l'air ambiant, d'où la diminution du risque de contamination, et des conditions de stérilité parfaite.

Cependant, pour assurer la conservation de la plus grande partie du sang total encore fournie dans notre centre (80%) nous nous trouvons obligés d'utiliser le flacon de verre d'un prix de revient modéré.

Nous espérons que l'utilisation de verre diminuera au profit du plastique ce qui témoignera d'une évolution moderne dans notre centre Ces poches peuvent être simples, doubles triples ou quadruples.

II - SOLUTIONS ANTI-COAGULANTES:

Nous utilisons simultanément l'ACD et le CPD, ce dernier ayant pris l'avantage sur le premier depuis quelques années.

- ACD: solution acide, citratée, et glucosée, dont la formule chimique est:

. Acide citrique $1H_2O$	0,80 g
. Glucose anhydr	0,40 g
. Citrate trisodique $2H_2O$	0,20 g
. Eau Q. S. P.	100 ml

Le pH est de 5, et le volume pour 300-400 ml de sang prélevé est de 75 ml.

CPD: C'est une solution acide, citratée, glucosée, et phosphatée. Le mérite de son application pratique revient aux travaux de GIBSON en 1957 (8). La formule chimique est la suivante:

- Acide citrique 1 H_2O 0,33 g
- Citrate trisodique 2 H_2O 2,63 g
- Glucose monohydre 2,55 g
- Phosphates trisodiques 1 H_2O 0,22 g
- Eau Q. S. P. 100 ml

Le pH est de 5,5 (plus basique que l'ACD), et le volume est également de 75 ml pour 300-400 ml de sang prélevé.

Ces deux solutions permettent de respecter les textes officiels concernant la solution anticoagulante, puisque l'arrêté ministériel du 16 janvier 1970 précise que: "La solution citratée acide, avec ou sans glucose, isotonique et d'un pH acide (5 à 5,5) doit être telle qu'elle empêche la coagulation du sang, permette la conservation des érythrocytes, et réduise au maximum les lésions dites de "conservation", son volume ne doit pas excéder 25 p 100 de celui du sang humain total recueilli dans un flacon ou un sac plastique. L'addition de toute substance antiseptique ou bactériostatique est proscrite".

III - PRELEVEMENT:

Nous avons recours à une masse de plus en plus large de volontaires, donneurs de prélèvements espacés.

Tout donneur est assuré contre les risques courus à l'occasion des prélèvements du sang.

L'âge des donneurs, en vue de préparation de dérivés sanguins, se situe entre 21 ans et 55 ans, soumis à une surveillance médicale continue, et sans pour autant, dépasser cinq dons par an.

Le prélèvement du sang se fait chez les donneurs bénévoles, ne présentant aucune contre-indication médicale. Il en est ainsi soustrait entre 300 et 400 ml de sang à chaque fois, le donneur étant en position allongée ou semi allongée.

Après chaque prélèvement, une série d'examens biologiques est pratiquée: La détermination de groupe, le dosage de l'hémoglobine, le dépistage de la syphilis, et la recherche de l'antigène australia. Chaque fois qu'il est nécessaire, des examens plus approfondis seront pratiqués: Les phénotypes, la recherche des anticorps irréguliers etc...

Nous procédons aux prélèvements en cabine fixe et dans les équipes mobiles. Cependant, nous préférons les prélèvements effectués en cabine pour la préparation des dérivés sanguins frais. Ainsi la durée entre le prélèvement et la préparation est très écourtée, et les risques du transport annulés. Nous prélevons environ 40 000 flacons par an, dont 15% sur plastique en cabine, et 85% sur verre en groupes mobiles.

IV - CONSERVATION:

Elle est variable en fonction du sang et de ses dérivés. De +4°C pour le sang total et les concentrés érythrocytaires, nous atteignons des basses températures au-delà de -70°C pour la conservation du plasma frais congelé.
Dans le premier cas, des chambres froides assurent la conservation de 21 jours.
Pour le second, des congélateurs électriques permettent une conservation de longue durée.

DEUXIEME PARTIE

DERIVES SANGUINS FRAIS

I - LES CONCENTRES ERYTHROCYTAIRES:

A - Définition:

Synonymes: Culots globulaires, concentrés globulaires, ou suspensions globulaires.

Ce sont des suspensions de globules rouges dérivés d'un sang total frais, et où le plasma a été soustrait en majeure partie. Les premières utilisations en France semblent remonter aux débuts des années 1958, au Centre de Transfusion de Rouen (9) où 558 concentrés furent préparés et distribués après un délai maximum de 10 jours de conservation.

Les textes officiels ont successivement défini ces concentrés. C'est ainsi que l'arrêté du 2 mai 1959 (article 8) précise que: "Les suspensions de globules rouges sont obtenues à partir de flacons de sang conservé, préparé dans les conditions fixées aux articles précédents.

Chaque flacon de sang doit être centrifugé au plus tard dans les trois jours qui suivent le prélèvement. Le plasma surnageant est décanté en circuit stérile et sous pression d'air filtré (ou d'azote liquide)..."

L'arrêté du 6 décembre 1972 ajoute que: "Le concentré de globules rouges est une suspension de globules rouges dont la teneur minimale en hémoglobine est de 22 grammes par 100 ml."

B - Préparations et résultats:

Après prélèvement de 300-400 ml de sang total sur ACD ou CPD, la fermeture hermétique des sacs est faite avec une soudeuse électronique à haute fréquence. Ils peuvent alors être centrifugés immédiatement, ou suspendus pour la sédimentation.

. La centrifugation, réfrigérée à +4°C, durera 25' à 1500 tours par minute.

. La sédimentation se fait en 48 heures à +4°C et à l'abri de la lumière.
La séparation du plasma se fait à l'aide d'un extracteur vertical à pression constante et continue en inclinant le sac de 15° environ.

Le plasma est ainsi recueilli dans le deuxième sac, ou dans un sac "pool" par l'intermédiaire de tubulures à transfert, et les fermetures hermétiques se font par soudure.

Nous obtenons, en opérant de la sorte, des concentrés érythrocytaires dans des sacs contenant environ 250 ml, dont 150 ml d'érythrocytes, et 100 ml de plasma dilué ACD ou CPD.

De chaque échantillon de sang total prélevé nous avons également séparé 200 ml de plasma frais qui aura sa propre destinée.

C - Conservation:

Elle est actuellement de 21 jours à +4°C et à l'abri de la lumière, en chambre froide. Cette limitation de temps, semble être dûe à une dégradation des containers plastiques et en particulier les phtalates qui en constituent un produit de dégradation. A partir du 21ème jour, la dose de ce produit dans le sang conservé pourrait être nocive pour l'organisme receveur (9).

Les érythrocytes, au cours de cette conservation, subiront des modifications décrites sous le nom de lésions de conservation (10). Le pH baisse progressivement, les cellules augmentent de volume, la membrane cellulaire perd ses lipides, la concentration en sodium augmente, celle du potassium diminue, et, ce qui nous interesse le plus, l'ATP et les 2-3 DPG (adénosine triphosphorique et 2-3 diphosphoglycérate) vont diminuer progressivement (11, 12, 13).

Les relations entre le taux de l'ATP et le pouvoir de survie cellulaire d'une part, le taux du complexe 2-3 DPG- hémoglobine et son affinité pour l'oxygène d'autre part, sont maintenant connus (14).

Le but principal d'une transfusion de globules rouges est de fournir au receveur les moyens d'assurer une oxygénation tissulaire correcte. Cet apport ne pourra être réalisé qu'à l'aide d'érythrocytes viables, et d'une concentration satisfaisante en hémoglobine.

La fraction transfusée doit avoir donc un taux suffisant d'ATP et de 2-3 DPG. C'est là que réside la supériorité du CPD à l'égard de l'ACD en matière de conservation (15): pour une durée égale de 21 jours, le sang CPD contient plus d'ATP et de 2-3 DPG que le sang ACD. Le sang CPD, après 21 jours de conservation, aura le même pouvoir que le sang ACD de 14 jours.

D - Rendement:

Les érythrocytes ACD ou CPD après 21 jours de conservation ont une viabilité supérieure à 70%. Vingt quatre heures après leur injection dans la circulation d'un receveur, 85 à 98% de ces hématies sont viables. Par ailleurs, toutes les modifications chimiques dues à la conservation (diminution du taux de l'ATP et de celui des 2-3 DPG) seront corrigées dans un délai variable de quelques minutes à 48 heures (10). Le seuil critique de 30% de la valeur initiale pour les 2-3 DPG sera à l'origine de la distinction entre deux catégories de sang: frais, dont l'hémoglobine est capable de transporter immédiatement l'oxygène et le délivrer au tissu ; moins frais, dont l'hémoglobine ne sera pleinement fonctionnelle qu'après un délai de 48 heures. Ce seuil critique est atteint après 14 jours de conservation sur CPD, et le sang frais sera celui ayant moins de 14 jours, le moins frais, celui ayant plus de 14 jours.

Cette distinction aura son importance dans la correction de l'anémie aiguë: le délai pourrait être critique pour un patient gravement malade qui aurait perdu du sang et dont la survie dépendrait d'un transport immédiat d'oxygène vers les tissus; il n'aura que peu d'importance pour la correction d'une anémie chronique, aplasique par exemple, relativement bien supportée, ne mettant pas la vie en danger.

Nous ne saurons clcre ce chapître sans résumer le contenu de chacun des concentrés érythrocytaires 150 ml d'érythrocytes à 85% viables, 100 ml de plasma et surtout des débris cellulaires, leucocytaires et plaquettaires qui ont perdu toute activité fonctionnelle mais conservé leur pouvoir antigénique.

E - Indications cliniques:

L'indication de la transfusion de concentrés érythrocytaires est posée toutes les fois qu'il existe une chute importante de l'oxygénation tissulaire en rapport avec une diminution du volume érythrocytaire total. Ce sont donc les anémies aiguës ou chroniques: chirurgicales ou médicales.

L'anémie est communément mesurée par la numération des hématies, le dosage de l'hémoglobine, et l'hématocrite. Dans nombre de cas, ces mesures suffisent pour apprécier la carence érythrocytaire, bien qu'elles soient toutes relatives puisqu'elles dépendent des volumes globulaire et plasmatique totaux. Elles sont donc influencées par l'hémoconcentration ou l'hémodilution.

L'efficacité d'une transfusion repose sur la compensation, donc sur l'évaluation précise du déficit à combler. Aussi, un intérêt particulier s'attache-t-il aux mesures des volumes sanguins (16).

La technique en est simple, l'exécution rapide, et les résultats précis. Elle ne présente aucun caractère nocif pour l'organisme, et nous pouvons la renouveler à plusieures reprises. Elle se fait, le plus couramment, à l'aide d'hématies marquées au radiochrome actif C51 (17).

Dans d'autres cas le volume plasmatique peut être déterminé par le bleu Geigy (18), le bleu Evans, ou l'iode radioactif.

Les chiffres normaux théoriques sont les suivants(19):

. Volume sanguin = 68 ml/kg chez l'homme, 66 ml/kg chez la femme ±10%
. Volume plasmatique = 41,5 ml/kg dans les deux sexes ±10%
. Volume globulaire = 26,5 ml/kg pour l'homme, 24,5 ml/kg pour la femme ±10%

Ils correspondent à un adulte de poids idéal $(P=T-100-\frac{T-150}{4})$

Lorsque le sujet s'écarte du poids idéal, une correction se fait à l'aide de la surface corporelle d'après l'abaque de Dubois et Dubois, le volume sanguin se calculera d'après la formule:

$$Vs\ (théorique) = \frac{S\ réelle}{S\ idéale} \times Vs\ idéale$$

Le volume sanguin se calcule d'après le volume globulaire et l'hématocrite corrigé:

$$VST = \frac{VG \times 100}{Ht(vx) \times 0;91}$$

où 0,91 représente le rapport de $\frac{\text{Hématocrite somatique}}{\text{Hématocrite veineux}}$

Les indications chirurgicales:

La transfusion de concentrés érythrocytaires doit être prescrite pour compenser une baisse brutale de l'oxygénation tissulaire en rapport avec un déficit du volume globulaire.

L'hémorragie aiguë abondante est la cause la plus fréquente de la diminution rapide et simultanée du volume érythrocytaire et du volume plasmatique.

Toute hémorragie grave pose un double problème immédiat: celui de l'hémostase, et celui de la reconstitution volémique. Lorsque l'hémostase est spontanée, le problème majeur est celui de la reconstitution de la volémie. Si l'hémostase ne peut-être que chirurgicale, la reconstitution pré - per et post opératoire ne fera qu'améliorer le pronostic ultérieur.

Un point essentiel est donc d'évaluer les quantités de fractions érythrocytaires à transfuser, et par conséquent, d'apprécier l'abondance d'une hémorragie, ce qui est habituellement difficile surtout si l'extériorisation en est différée.

On ne saurait trop insister sur l'importance des signes cliniques tels que le pouls et la tension artérielle. Il existe un parallélisme constant entre la chute tensionnelle et le volume de la perte sanguine.

La pression veineuse centrale, par introduction d'un cathéter auprès de l'oreillette droite, peut nous donner des indications précieuses: sa chute témoigne d'une diminution de la masse sanguine circulante, son augmentation est en faveur d'une défaillance myocardique, ce qui contre-indique toute transfusion massive.

Les examens usuels de laboratoire, ainsi que nous l'avons vu, n'auront qu'une valeur relative. Néanmoins, leur répétition après une reconstitution volémique normale peut constituer un guide pour la suite de la thérapeutique transfusionnelle.

L'examen idéal reste donc la mesure des volumes sanguins, tant pour préciser la gravité de l'hémorragie, que pour guider l'indication quantitative de la transfusion.

Ces mesures auront l'avantage de nous mettre en évidence les caractères communs à toutes les hémorragies.

- Dès le début de l'hémorragie, du plasma venu du secteur extra-vasculaire pénètre dans les vaisseaux, d'où hémodilution(20).
- Cette mobilisation de liquide extra-vasculaire se poursuit après l'arrêt de l'hémorragie.
- Rapidité de cette mobilisation (21 et 22): six heures après l'arrêt de l'hémorragie en général, le volume plasmatique est redevenu normal; entre la vingt-quatrième et la quarante -huitième heure, il est augmenté de telle manière que le volume sanguin total est redevenu normal.

- Contrastant avec cette rapidité, la réparation du volume globulaire ne se fait que très lentement, entre 50 et 60 ml/jour et après un délai qui va de cinq à quinze jours (23 - 24).

Le nouveau plasma, ainsi mobilisé, a une teneur protidique sensiblement normale. Ceci est dû aux réserves extra-vasculaires importantes et facilement mobilisables.

Des auteurs (25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32) estiment à 60% le taux de la réserve extra-vasculaire par rapport à la totalité des albumines et des gamma- globulines G, et de 200% pour le fibrinogène et les gamma-globulines M, cette réserve étant rapidement reconstituée.

En l'absence de choc, l'hypovolémie post-hémorragique se répare très rapidement. L'homme normal retrouve une volémie normale; le malade atteint de cirrhose, son hyper-volémie (33). Le seul problème à résoudre reste la reconstitution du volume globulaire.

La classification des anémies par hémorragie que nous proposons, se base sur l'origine de cette dernière.

a - Hémorragie pure
  a - 1 abondante mais arrêtée
  a - 2 modérée ou abondante mais persistante ou répétée
  a - 3 abondante et continue
b - Hémorragie avec traumatisme
c - Hémorragie des cirrhoses
d - Cas particulier: circulation extra corporelle

a - Hémorragie pure: non associée à un traumatisme.

a - 1 Elle est abondante, l'hémostase en est spontanée.

C'est l'hémorragie après avortement ou l'hémorragie gastro-duodénale d'origine ulcéreuse.

Nous prendrons comme exemple: une hémorragie après avortement, chez une personne de 54 kg qui a perdu environ 50% de sa masse sanguine, et une hémorragie digestive de 1,5 l environ chez un sujet de 72 kg.

Dans l'évolution spontanée, en l'absence de toute thérapeutique transfusionnelle, la mesure des volumes sanguins, effectuée à plusieurs stades nous montrera les résultats suivants:

		Arrivée	4h après	20h après	vol. Théoriques
	VST	1 850	2 450	2 900	3 650
1er cas	VPT	1 200	1 800	2 300	2 300
	VGT	650	650	650	1 350

		Arrivée	4h après	48h après	vol. Théoriques
	VST	3 200	3 650	4 600	4 500
2ème cas	VPT	2 000	2 450	3 400	2 900
	VGT	1 200	1 200	1 200	1 800

La correction se fera avec des concentrés érythrocytaires dans les deux cas. L'injection de cinq concentrés dans le premier exemple:

$$\frac{1\,350 - 650}{150} = 5$$

rétablira le volume globulaire normal, et apportera 500 ml de plasma contenus dans ces concentrés. Nous aurons ainsi des chiffres normaux à la quatrième heure. Dans le second exemple, nous aboutirons aux mêmes résultats par l'injection de quatre concentrés érythrocytaires.

a - 2 Hémorragie pure modérée mais peristante:

C'est l'exemple de certaines hémorragies digestives qui persistent depuis plusieurs jours. L'intervention chirurgicale à visée hémostatique s'avère nécessaire, encore faut-il que le terrain soit particulièrement bien préparé et la masse sanguine correctement rétablie.

Dans ces cas, nous assistons à un véritable effondrement du volume globulaire circulant, alors que le volume plasmatique demeure normal ou supérieur à la normale. L'étude des volumes sanguins confirmera ce point, et nous montrera que la chute du volume globulaire peut atteindre 75% du volume initial, alors que le volume plasmatique demeure normal.

La réparation se fait évidemment avec des concentrés érythrocytaires et en quantité suffisante d'emblée.

En effet, il faut condamner l'attitude thérapeutique très courante qui consiste en l'injection de petites quantités tous les jours, dans l'espoir non fondé, de favoriser l'hémostase. Outre le fait que ces transfusions ne combattent pas la déglobulisation, elles font courir aux malades les risques les plus sévères d'un collapsus brusque, irréversible.

a - 3 Les hémorragies abondantes et qui se poursuivent:

Elles constituent peut-être la seule indication de transfusion de sang total. C'est l'hémorragie accidentelle per-opératoire, où le débit est important, la déperdition plasmatique est parallèle à celle globulaire. Il importe dans ce cas, et dans ce cas seulement, d'apporter outre les globules perdus, lorsque le péril est réel, le volume plasmatique nécessaire.

b - Les hémorragies associées à un traumatisme:

Avec état de choc et collapsus cardio-vasculaire. Elles sont caractérisées par une lenteur ou absence de régénération plasmatique, l'afflux du plasma ne semble pas s'effectuer normalement (20). Cet état de choc survient dès que la perte du volume sanguin total approche 60% (34).

C'est pour le traitement de ces hémorragies que les mesures de la volémie rendent les plus grands services.

La réparation de la volémie se fait avec les concentrés érythrocytaires pour la partie globulaire. Pour la réparation plasmatique on utilisera des solutions iso ou hypertoniques, macromoléculaires, ou du plasma. Nous préférons donc cette attitude que de transfuser du sang total dans un but d'éviter tout risque d'immunisation secondaire.

c - Hémorragies des cirrhoses:

C'est le cas des hémorragies digestives par rupture de varices oesophagiennes. Elles représentent une partie importante des hémorragies chirurgicales.

Chez le cirrhotique, l'afflux de plasma s'effectue aussi rapidement que chez le sujet au foie sain. Mais, alors que chez le sujet à foie normal, la régénération plasmatique ramène en 48h le volume sanguin total à la normale, chez le cirrhotique le volume sanguin total est habituellement supérieur à la normale 48h après une hémorragie (33).

L'hématocrite aura donc tendance à surestimer la valeur d'une hémorragie, et les mesures de la volémie garderont toute leur valeur. La réparation de cette anémie hémorragique se fera également avec des concentrés érythrocytaires.

d - Circulation extra corporelle:

Dans la chirurgie cardiaque moderne certains auteurs (35) préfèrent l'utilisation des concentrés érythrocytaires à celle du sang total. Ils sont alors dilués dans une solution de Ringer Lactate (B21) et l'hématocrite est situé entre 20 et 30 pour cent. Leur injection peut associer celle du plasma et des concentrés plaquettaires éventuellement.

Les concentrés érythrocytaires doivent donc trouver leur utilisation dans toutes les indications chirurgicales de la transfusion ayant pour but le maintient de l'oxygénation tissulaire, lorsque celle-ci est en péril. L'injection unique d'un concentré fera courir au malade un risque inutile.

La transfusion, pour être efficace, doit être rapide et mesurée. L'étude des volémies apporte des renseignements précieux. Aucun risque de délogement du caillot, lorsque celui-ci s'est formé, n'existe par la réparation globulaire rapide.

Le pouvoir hémostatique des transfusions de sang total ou de concentrés érythrocytaires n'est que très secondaire. Il est lié à l'apport d'un des facteurs de l'hémostase, lorsque son déficit est à l'origine de la persistance de cette hémorragie. Dans ce cas, la transfusion d'une solution concentrée de ce facteur, aura un rendement

supérieur, sans pour autant faire courir au malade le risque de surcharge circulatoire (34).

Les indications médicales.

Les transfusions de concentrés érythrocytaires sont indiqués chaque fois que la diminution du volume globulaire circulant met la vie du malade en danger. Ce sont les anémies.

Si les érythrocytes injectés constituent un traitement substitutif au cours des anémies durables, telles qu'au cours des hémopathies malignes, ils n'auront qu'une valeur symptomatologique liée à leur survie dans les anémies relevant d'un traitement physiopathologique précis, telles les anémies par insuffisance endocrinienne. Ils aideront donc à franchir un cap dangeureux, le traitement médical constituant le principal traitement de fond de ces affections.

Nous pouvons les classer en trois groupes:

a - les anémies au cours des hémopathies
b - les anémies au cours de certaines maladies évolutives
c - les anémies chez les dénutris.

a - Les anémies au cours des hémopathies:

Rarement aiguës nécessitant la transfusion d'urgence, elles sont le plus souvent chroniques. L'origine de cette anémie peut-être soit par excès d'hémolyse, c'est le cas des maladies hémolytiques ou par insuffisance de production dans les hémopathies malignes.

L'anémie dans les hémopathies malignes, telle que la leucémie aiguë ou chronique, les myélomes, peut faire partie du tableau évolutif de la maladie. Elle peut également être provoquée et faire partie d'une pancytopénie médicamenteuse au cours d'autres maladies, la maladie de Hodgkin par exemple. La chimiothérapie et la radiothérapie peuvent l'entrainer par le fléchissement qu'elles imposent à la production érythropoiëtique de la moelle osseuse.

Les mesures de la volémie mettent en évidence le contraste entre le volume globulaire diminué et le volume plasmatique augmenté.

La réparation se fait donc avec des concentrés érythrocytaires uniquement. Ces transfusions constituent souvent le seul traitement efficace pendant de longues années.

b - Les anémies au cours de certaines maladies évolutives:

La transfusion ne constitue là qu'un traitement symptomatique, en attendant les effets du traitement physiopathologique. C'est le cas des anémies par carence en Vitamine B12, l'anémie des gastrectomisés, l'anémie de certaines néphropathies, l'anémie de l'insuffisance cardiaque, l'anémie des insuffisances surrénales et anté-hypophysaires surtout (36), et l'anémie des cirrhoses.

Ces anémies peuvent être normo, hypo ou hyper volémiques (37). Mais la transfusion visera surtout la reconstitution de la masse globulaire circulante.

c - L'anémie chez les dénutris:

Chez des sujets atteints de cancer, de suppurations profondes, ou des sténoses digestives. Dans la genèse de cette anémie intervient l'hémolyse, l'infection, les hémorragies occultes et l'insuffisance médullaire. Le volume plasmatique est, dans ce cas, le plus souvent normal (16), et les déficits plasmatiques en protéines discrets (38).

Les transfusions de concentrés érythrocytaires traitera non seulement l'anémie, mais la carence protéinique globale (39).

L'étude de l'ensemble des indications des concentrés érythrocytaires nous permet de distinguer deux groupes d'anémies: post-hémorragiques chirurgicales et médicales.

Dans les premières, l'indication de la transfusion est urgente: l'oxygénation tissulaire doit être assurée sans délai après la transfusion. Les concentrés érythrocytaires utilisés seront forcément des concentrés frais (moins de quatorze jours de conservation).

Pour le traitement des anémies médicales, il est rare que l'urgence soit vitale à courte échéance. La transfusion pourra faire appel à des concentrés moins frais (entre quatorze et vingt et un jour de conservation).

Toute transfusion érythrocytaire doit être immunologiquement compatible. L'emploi, de plus en plus fréquent, des transfusions sanguines, à la lumière des progrès scientifiques, porte un risque difficilement évitable: l'allo-immunisation. C'est l'apparition chez certains receveurs d'anticorps par l'introduction d'antigènes que le receveur ne possèdait pas. Ces antigènes peuvent être érythrocytaires, leucocytaire ou plaquettaires: les anticorps seront des anticorps irréguliers.

Le développement de la transfusion a créé une nouvelle catégorie de receveurs: les polytransfusés. Ils peuvent être médicaux, dans l'aplasie médullaire par exemple, chirurgicaux, dans l'hémorragie gastrique récidivante, ou obstétricales: les hémorragies foeto-maternelles au cours des grossessses multiples constituent pour la mère autant de transfusions, plus ou moins importantes, que de grossesses. Aussi un intérêt particulier s'attache-t-il à la surveillance systématique rigoureuse de tout polytransfusé afin de détecter l'apparition d'anticorps irréguliers.

L'apparition de ces anticorps, ou le souci extrême de les éviter chez un malade candidat à une greffe, nous obligera le recours à certaines préparations spéciales: les globules rouges congelés, le sang déleucocytés, déplaquetté, ou les globules rouges lavés (40).

Les concentrés déleucocyté, déplaquettés:

"Le sang déleucocyté et le sang déplaquetté sont des sangs, (et par extension des suspensions érythrocytaires) contenant moins de 1 000 leucocytes par mm3 pour le premier, et moins de 50 000 plaquettes par millimètre cube pour le second".

C'est la définition officielle publiée en Décembre 1972.

La préparation, qui reste du ressort de certains centres actuellement, fait appel à une méthode combinée soit de décantation et filtration, soit lavage et filtration, soit enfin sédimentation avec adjonction de Dextran.

Le lavage seul ne suffit pas pour atteindre les chiffres cités dans la définition.

Les indications de ces concentrés se posent toutes les fois que l'on désire éviter des réactions post-transfusionnelles gênantes ou sévères chez un malade déjà immunisé. Par contre si l'on veut vraiment éviter l'allo immunisation d'un malade non encore transfusé, le sang appauvri en leucocytes et en plaquettes ne présente pas de garanties suffisantes. En effet, il faut insister sur l'importance du rôle des antigènes des leucocytes et des plaquettes restants.

Comme nous le montrerons plus loin, les suspensions d'hématies décongelées sont seules actuellement susceptibles de ne pas contenir d'antigènes leuco-plaquettaires.

Les globules rouges lavés sont obtenus à partir d'une suspension de globules rouges ayant été lavés trois fois au moins dans une solution isotonique. Actuellement, on peut procéder au lavage en flux continu.

L'utilisation doit être immédiate, n'éxcédant pas six heures après la préparation.

Les indications des globules rouges lavés sont dictées par:

1 - Une maladie ou particularité du sang du receveur:

- Maladie de MARCHIAFAVA - MICHELI ou hémoglobinurie nocturne paroxystique.

- Présence d'anticorps anti gamma globulines ou anti lipoprotéines (il faut laver les hématies souvent une dizaine de fois car les anticorps circulants chez certains malades (agamma globuline némie) peuvent être très puissants).

2 - Une particularité du sang du donneur, c'est le cas du sang contenant des anticorps anti leucoplaquettaires ou anti gamma globulines.

F - Conclusions:

A l'heure actuelle, la part réservée au sang total dans la thérapeutique transfusionnelle doit être nulle, ou presque nulle. Cependant, les statistiques toutes récentes, montrent que cette part atteint 85% de la demande. La France, à cet égard, ne constitue pas un cas particulier.

Les concentrés érythrocytaires constituent le traitement de choix de toutes les anémies, hémorragiques ou autres.

Les critiques que l'on a pu formuler à l'encontre de ces concentrés n'ont aucun fondement: la préparation n'altère nullement la qualité du globule rouge ni sa fonction, et la soustraction du plasma, loin d'être nocive, n'en est que bénéfique. Outre la diminution du risque de surcharge circulatoire, elle diminue la quantité des ions citrates acides introduits dans l'organisme receveur, ainsi que les sites antigéniques, sous forme de débris cellulaires contenus dans ce plasma.

II - LES CONCENTRES PLAQUETTAIRES.

A - Définition:

Les textes officiels définissent les concentrés plaquettaires comme étant "une suspension de plaquettes contenant au moins 1 200 000 plaquettes viables par millimètre cube. Le délai entre le prélèvement du sang et l'utilisation ne doit pas excéder 36 heures.

Cette définition exclut toute suspension de plaquettes non viables, conservées par congélation ou autre.

B - Préparation:

Le prélèvement de 300-400 ml de sang se fait sur une triple poche plastique "hémopack" avec le CPD comme anticoagulant.

Une première centrifugation douce réfrigérée à 1500 tours par minutes pendant 25 minutes permettra la séparation du plasma riche en plaquettes. Ce plasma est tansféré dans la deuxième poche contenant 25 ml de CPD. Le concentré érythrocytaire sera acheminé vers la conservation à +4°C dans une chambre froide. Une deuxième centrifugation plus rapide, à 3 000 tours par minute pendant 25 minutes rassemblera les plaquettes au fond de la poche.

Le transfert du plasma appauvri en plaquettes dans la troisième poche permettra d'obtenir le concentré plaquettaire, après avoir pris soin de laisser 50 ml de plasma dans la seconde poche.

Un massage énergique permettra de remettre les plaquettes en suspension. Le plasma sera conservé.

Nous obtenons de la sorte, une suspension de 50 ml de plasma enrichi en plaquettes, mais avec quelques débris cellulaires, leucocytaires ou érythrocytaires.

C - Conservation:

Aucune technique de conservation des plaquettes ne donne actuellement entière satisfaction.

L'utilisation doit se faire dans les 48 - 72 heures qui suivent la préparation. Pendant ce temps, les concentrés plaquettaires sont gardés à la température ambiante, et soumis à une agitation douce et permanente.

D - Rendement:

La concentration de cette suspension varie entre 1 200 000 et 1 500 000 plaquettes par millimètre cube.

Le rendement in vitro est de l'ordre de 60-70%.

Les études faites, après injection in vivo de ces concentrés plaquettaires, montrent que l'on retrouve 70% de ces dernières dans la circulation du receveur.

Le rendement total, concernant le nombre de plaquettes viables, est de l'ordre de 50%.

E - Indications cliniques:

Le rôle essentiel des plaquettes comme éléments figurés de l'hémostase justifie leur apport dans le traitement des syndromes hémorragiques liés à un déficit plaquettaire quantitatif, thrombopénie, ou qualitatif, thrombopathie.

Pour que l'injection des plaquettes soit efficace sur l'hémostase, il faut que la thrombocytose circulante soit à une valeur au moins égale à 50 000 par millimètre cube (41).

La quantité injectée dépend alors de la valeur initiale de la thrombocytose, du poids et de la taille du receveur, donc du volume sanguin.

L'injection d'un concentré plaquettaire modifiera la thrombocytose variablement d'après le poids du sujet (voir tableau)

Poids du sujet	Elévation par mm"
3 kg	180 000
10 kg	50 000
30 kg	18 000
75 kg	7 500

Pour atteindre ce chiffre de 50 000/mm3, il faudra donc trois concentrés pour un enfant de 30 kg et sept pour un adulte de 75 kg.

Il est nécessaire d'atteindre la concentration optima dès que la thérapeutique transfusionnelle est décidée, la durée de vie des plaquettes étant courte. L'injection de la totalité des concentrés, le plus rapidemment, sera préférable.

Toute injection de plaquettes est considérée comme antigénique. La probabilité, à la troisième injection, que le patient soit immunisé est grande, même si les anticorps ne sont pas sérologiquement décelables. L'efficacité des transfusions devient précaire. Ceci nous amène à ne poser aucune indication si le péril n'est pas réel: anoxie par saignement interne et prolongé, ou hémorragie dans un organe essentiel et fragile (cérébro-méningée).

a - Les thrombopénies

1 - Chroniques: par excès de destruction, périphériques acquises, ou insuffisance de production, centrales (42).

. Excès de destruction:

Dans les thrombopénies acquises idiopathiques ou immunologiques par auto anticorps (anémies hémolytiques des leucémies aiguës, maladie de Hodgkin; syndrome d'Evans) iso anticorps (anémie hémolytique du nouveau-né, immunisation transfusionnelle), ou médicamenteuses (43). Ces trombopénies s'observent également dans les hypertensions portales, certaines maladies virales (mononucléose, hépatite), les maladies de système et certaines tumeurs spléniques.

. Insuffisance de production:

Ce sont les thrombopénies centrales acquises ou congénitales.

- Acquises par action directe sur la thrombopoïèse dans certaines maladies infectieuses (syphilis, septicémie à pyogènes, tuberculose, rubéole congénitale, herpès congénital, hépatite virale), parasitaires (toxoplasmose congénitales) ou toxiques (physique, chimique ou médicamenteuse).

- Congénitales: amégacaryocytose congénitale (aplasie des radius). Maladie de Franconi, syndrome d'Aldrich (Eczéma, infection) ou l'anomalie de May-Hegglin (plaquettes géantes).

2 - Aiguës: lors de la circulation extra corporelle (35) où l'injection de concentrés plaquettaires peut être nécessaire si l'intervention chirurgicale a duré plus de deux heures.

Dans toutes les thrombopénies immunes la durée de vie des plaquettes injectées est particulièrement brève. Il nous faut en tenir compte, et injecter des quantités supérieures de plaquettes si l'on désire une efficacité hémostatique irréprochable.

b - les thrombopathies:

Elles sont héréditaires et exceptionnelles: la maladie de Glanzman ou thrombasthénie idiopathique, la dystrophie thrombocytaire hémorragipare, ou le syndrome de Willebrand-Jurgens. Dans ce cas, le nombre de plaquettes persistantes n'a aucune valeur puisqu'elles ne sont pas fonctionnelles. La transfusion aura pour but l'apport de 50 000 éléments par mm3 en partant d'un chiffre nul.

F - Conclusions:

La conservation, actuellement, des plaquettes est difficilement réalisable. Ces préparations se feront donc en fonction de la demande.

La nature antigénique de ces plaquettes et leur importance dans l'immunisation du système HLA par exemple, ne nous permet pas un caractère préventif dans ces transfusions. Elles seront donc l'apanage d'une indication précise où le risque vital est en jeu, tout en respectant les groupes antigéniques ABO, et HLA si possible.

Malgré toutes ces précautions, un thrombopénique ne doit pas espérer plus de trois transfusions plaquettaires efficaces. Elles ne peuvent nullement être considérées comme un traitement d'entretien chez un "saigneur" chronique.

III - CONCENTRES LEUCOCYTAIRES.

A - Définition:

Le concentré leucocytaire est une suspension de leucocytes contenant au moins 30 000 granulocytes viables par mm3. Le délai entre le prélèvement de sang et l'utilisation ne doit pas excéder six heures.

B - Préparation:

Elle pose encore de nombreux problèmes pratiques et est loin d'être considérée comme un acte normal exigible d'un centre de transfusion. Cependant, dans certains centres spécialisés (44), la préparation fait appel à un appareil de séparation de cellules à débit continu. Ce qui permet une séparation des leucocytes à partir de 10 ou 15 litres de sang circulant.

C - Indications cliniques:

Le traitement transfusionnel de l'agranulocytose est l'injection d'une quantité suffisante de polynucléaires pour compenser provisoirement le déficit du patient.

L'efficacité limitée de ces transfusions tient à la durée de vie très courte des leucocytes injectés (4% détruits par heure). Le nombre de leucocytes marginaux extra-vasculaires est beaucoup plus important que celui intra-vasculaires.

La quantité nécessaire est considérablement variable selon le volume sanguin de l'adulte. Elle est de l'ordre de 50 à 60 concentrés de leucocytes issus de 25 à 30 litres de sang citraté (41). L'élévation de la leucocytose quand elle existe, est brève puisque 50% des leucocytes injectés disparaissent en 17 heures.

On peut avoir recours à l'injection de leucocytes provenant d'un malade atteint de leucémie myéloïde chronique et dont le sang contient plus de 100 000 leucocytes par mm3 (56).

D - Conclusion:

Bien que l'on connaisse mieux les antigènes de groupes leucocytaires que ceux plaquettaires, ils restent de nos jours beaucouup moins connus que les antigènes érythrocytaires. La transfusion leucocytaire se fait le plus souvent sans tenir compte des groupes leucocytaires des donneurs et des receveurs: elle comporte un risque certain d'allo-immunisation anti-leucocytaire (55).

Récemment, des transfusions de leucocytes HLA compatibles ont été réalisées à partir d'un donneur unique soumis à une leucophérèse prolongée.

Ces transfusions restent cependant du ressort de certains centres spécialisés.

IV - LES CRYOPRECIPITES RICHES EN FACTEUR VIII: ANTI-HEMOPHILIQUES A.

A - Définition:

"Le cryoprécipité ou fraction antihémophilique A humaine congelée, est la fraction de protéines plasmatiques qui reste insoluble après décongélation à +4° C d'un plasma préalablement congelé à une température inférieure à -30° C".

B - Préparation:

Nous avons utilisé la technique classique décrite par POOL et SHANON (45) et utilisée alors au Centre Départemental de la Transfusion Sanguine de la Seine (46).

Actuellement, nous préparons cette cryoprotéine d'après la technique décrite par B. NOEL (47):

- Prélèvement de 400 ml de sang selon les critères d'usage, dans un ensemble de sacs plastiques constituant un chapelet de quatre sacs. L'anticoagulant est le CPD. (Hémopack, fournis par la maison Dubernard).
- Une première centrifugation à 2 500 tours/minute pendant 30', refroidie, permet la séparation du plasma pauvre en plaquettes dans le sac satellite. Le concentré érythrocytaire sera acheminé vers l'utilisation correspondante.
- Le sac de plasma, relié aux deux autres, est inséré horizontalement entre deux plaques métalliques. Le cadre, contenant plusieurs sacs, est plongé dans un bain d'alcool maintenu à -7°$\pm$ 0,1. Chaque sac y est laissé pendant une heure et demie.
- Le plasma doit rester en surfusion jusqu'à ce qu'il soit plongé dans un bain à -80% C. Le plasma congelé, après surfusion, est remarquable par son aspect laiteux de microcristallisation.
- Après une heure de congélation, les sacs sont placés à +4° c pour la décongélation. Elle sera complète 14-16 heures après.
- Une deuxième centrifugation à 2 500 tours/minute pendant 20 minutes permet la cryoprécipitation.

- Le plasma surnageant est transféré dans le troisième sac, et la cryoprotéine reste dans le fond du sac.

- Transfert de 8 ml de solution isotonique saline et citratée à 0,2% contenue dans le quatrième "mini-sac", dont la contenance est de 15 ml, dans le sac contenant la cryoprotéine.

- Après malaxage au bain marie à 37°, on réintroduit la solution dans le mini-sac. Au moment de l'injection, un filtre en nylon invaginé dans le sac retiendra tout agrégat éventuel. Un segment de tubulure contenant du cryoprécipité permet le dosage du facteur VIII. On peut réussir un "pool" de plusieurs mini-sacs.

C - Conservation:

La conservation se fait à -35° C. Les cryoprécipités sont alors gardés six mois.

D - Rendement et contenu:

Le dosage du facteur VIII est fait selon la technique en un temps de J. P. Soulier et M. J. LARRIEU (48). Le volume du plasma est estimé par pesée. Le taux de facteur VIII est déterminé pour chaque plasma et cryoprécipité d'une part, et pour la totalité du volume injecté d'autre part.

Le rendement technique ainsi mesuré est de 70%. Le recouvrement, chez l'hémophile après dosage du facteur VIII avant et 15 minutes après injection est de 70%. Le recouvrement effectif total est donc environ 50%. Autrement dit, l'injection de 8 ml de cryoprécipité correspond à l'injection de la moitié du plasma frais nécessaire pour la préparation de cette cryoprotéine, par conséquent 85 ml de plasma frais (220 ml de plasma CPD, ou 170 ml de plasma pur).

Cependant, il est impératif d'effectuer les dosages du facteur VIII sur l'ensemble des cryoprécipités, en cas d'utilisation massive, et de chaque sac lorsque l'utilisation est unique, chez l'enfant par exemple.

E - Indication cliniques:

La cryoprotéine riche en facteur VIII constitue le traitement substitutif de l'hémophilie A: le taux du facteur VIII est le plus souvent inférieur à 5%.

Les accidents hémorragiques étant capricieux quant à leur survenue et l'hémostase en étant parfois spontanée, il serait inutile d'instituer chez ces malades un traitement préventif avec tous les risques qu'il comporte: l'injection quotidienne, (la durée de vie est de 8 à 10 heures) constitue une source infectieuse non négligeable.

La transfusion de ces solutions riches en facteur VIII est un élément artificiel de l'hémostase au même titre qu'une ligature chirurgicale. Elle ne sera entreprise que dans le traitement des accidents hémorragiques ou leur prévention. Elle est alors associée à celle des concentrés érythrocytaires lors des grandes hémorragies.

Le calcul des quantités nécessaires se fait en fonction du volume plasmatique du sujet d'une part, et en tenant compte du rendement global d'une autre part. Pour que l'hémostase soit assurée, un taux de 40-50% de facteur VIII est nécessaire. Or ce taux est quasi nul chez l'hémophile, et pour atteindre 40%, il faut lui injecter l'équivalent de 40% de son volume plasmatique en plasma frais. L'injection d'un mini-sac de cryoprécipité correspond à celle de 85 ml de plasma frais, ainsi nous pourrons calculer le nombre de cryoprécipités nécessaires.

Un hémophile de 70 kg, chez lequel nous voudrions atteindre un taux de facteur VIII égal à 40% recevra:

$$\frac{70 \times 45 \times 0{,}40}{85} = 15 \text{ sacs de cryoprécipités.}$$

Le volume plasmatique étant de 40-45 ml/kg, et le volume total injecté sera de 120 ml.

Cette injection pourrait être renouvelée, le lendemain, si l'hémorragie persistait.

La maladie de Willbrand (49) consitue une autre indication de la cryoprotéine riche en facteur VIII. Le déficit étant un profacteur VIII, les modalités thérapeutiques seront les mêmes que celles de l'hémophilie A.

F - Conclusion:

La fabrication de la protéine riche en facteur VIII est à la portée de tous les centres de transfusion. Son efficacité est incontestable dans le traitement des hémophilies A, ce qui justifie la hardiesse des interventions chirurgicales entreprises chez ces hémophiles.

V - LE PLASMA

La vogue du plasma a duré jusqu'en 1958. Le nombre de maladies traitées par plasmathérapie était considérable. Le risque de transmission du virus de l'hépatite a fait reculer l'utilisation du plasma, on préféra alors l'injection de solution d'albumine. Depuis les progrès dans l'industrie des fractions d'origine humaine n'ont cessé de croître, et chaque maladie trouve son indication thérapeutique dans telle ou autre fraction.

A - Définition:

Le plasma est le liquide obtenu lorsque le sang, recueilli sur une solution anticoagulante, a été privé de ses éléments figurants.

Il peut-être utilisé tel quel, à l'état liquide, frais, ou congelé pour la conservation. Il peut servir également au fractionnement dans le cadre de la préparation des fractions plasmatiques.

B - Préparation:

Elle peut faire partie de la préparation d'autres dérivés sanguins frais (concentrés érythrocytaires, plaquettaires et cryoprécipités), être spécifique à l'obtention de plasma (plasmaphérèse), ou être dictée afin d'éviter tout gaspillage dans cette partie de sang total jusque là conservée, et qui approche de la date de péremption.

a - La préparation du plasma constitue une étape intermédiaire dans celle des concentrés érythrocytaires, plaquettaires ou cryoprécipités. Nous avons étudié cette préparation dans les chapîtres concernant chaque dérivé.

b - La plasmaphérèse (50) est employée depuis plus de vingt ans pour l'obtention d'un plasma spécifique contenant des anticorps immnuns (anti D ou anti australie par exemple).

Elle se fait en trois étapes (53), elle est absolument inoffensive:

. Prélèvement de 400 à 500ml de sang chez un donneur immunisé naturellement ou artificiellement, dans un nécessaire à plasmaphérèse plastique contenant du CPD.

. Centrifugation du sang et décantation stérile du plasma.

. Perfusion intra-veineuse au donneur de ses propres globules rouges.

L'ensemble peut être réalisé en moins de 45 minutes et peut être répété deux fois par séance, la deuxième soustraction de sang intervenant après l'injection des globules rouges.

Nous obtenons ainsi 400 à 500 ml de plasma CPD par donneur et par séance.

c - Le sang total, après un délai de conservation plus ou moins long, ne dépassant pas 20 jours, peut servir à la préparation du plasma destiné au fractionnement uniquement.

Après sédimentation, la décantation stérile du plasma se fait à partir des sacs plastiques ou des flacons de verre. Dans ce deuxième cas, la décantation du plasma se fait par pression d'air filtré ou d'azote liquide, sous atmosphère stérile et le plasma est conditionné dans des "pools" de un ou deux litres.

Dans les trois cas, nous obtenons du plasma dilué CPD mais contenant des débris cellulaires, parfois solubles, et qui ont une activité antigénique, et des anticorps circulants naturels ou immuns Ce plasma est stérile, , et son taux de protéines est égal ou supérieur à 4,5 g pour 100 ml.

C - Conservation et durée de péremption:

- Le plasma frais liquide ne se conserve pas. Il doit être utilisé immédiatement après la préparation, ou congelé à l'état frais pour servir ultérieurement. La conservation par congélation se fait à des températures comprises entre -30° C et -70° C. La durée de conservation est de 2 mois à -30° C, de 5 ans à -70° C.

De toute manière, un contrôle bactériologique précède toute injection de plasma: les risques d'inoculation microbienne persistent parfois, même après conservation à basses températures.

- Le plasma destiné au fractionnement peut se conserver à l'état liquide à +4° C ou congelé à -20° C.

Cependant, la durée de conservation, le délai entre le prélèvement du sang et la décantation sont à l'origine de la distinction de trois catégories de plasma bien connues par les centres de fractionnement. Chaque catégorie répondant à un certain nombre de critères, outre les critères généraux du plasma: aspect, taux en hémoglobine, délai de décantation etc...

D - Utilisation:

- Les besoins en plasma frais, en rapport avec le taux du facteur V de l'hémostase ainsi que nous le verrons dans l'étude des indications, sont assurés en partie par le plasma provenant de la préparation des cryoprécipités. Ce plasma est riche en facteur V ou "accélérine" et l'activité antihémophilique A en est diminuée de la moitié (46). Le plasma restant sert au fractionnement et à la lyophilisation.

- Le plasma frais de première qualité servira à la préparation du plasma lyophilisé, de la fraction antihémophilique A lyophilisé, ou de la P.P.S.B. (prothrombine, proconvertine, antihémophile B, et facteur Stuart: le prélèvement de sang se fait sur sequestrène).

- Le plasma de seconde catégorie, décanté dans les 5 jours après le prélèvement servira au fractionnement et à la préparation du fibrinogène, des immunoglobulines polyvalentes et spécifiques.

- Le plasma de troisième catégorie, décanté dans les 20 jours qui suivent le prélèvement, servira à la préparation de l'albumine humaine.

E - Indications cliniques:

Les risques infectieux et immunologiques, de l'injection de plasma, ont limité les indications de ce dernier. Par ailleurs, les progrès réalisés dans la préparation industrielle de toutes les fractions plasmatiques ont favorisé l'utilisation de ces fractions à celle du plasma.

Il reste cependant des indications essentielles de la plasmathérapie, dues à la préparation irréalisable actuellement de certaines de ces fractions: le facteur V "accélérine".

a - syndromes hémorragiques des cirrhoses du foie liés à un déficit en facteur V:

A ce propos, il est légitime de constater que l'opinion, encore courante, concernant l'apport du P.P.S.B. ne solutionne pas le problème. Les deux facteurs de l'hémostase qui sont déficitaires dans les cirrhoses du foie sont le fibrinogène I et l'accélérine V, le P.P.S.B. n'en contient pas, ou en quantité très faible. La correction du déficit se fera avec du plasma frais en tenant compte du volume plasmatique du sujet, de son taux initial en facteur V et fibrinogène, et du taux que l'on désire obtenir.

Le P.P.S.B. ne sera utilisé que lors des hémorragies avec ictère rétentionnel, où la prothrombine n'est pas excrétée par le foie.

b - Les cas rarrissimes des syndromes hémorragiques dans la maladie d'Owren ou hypoaccélérinémie congénitale.

c - Dans les circulations extra-corporelles

En chirurgie cardiaque, les auteurs modernes préconisent l'emploi de quelques sacs de plasma frais (35) en fin d'intervention.

Les indications secondaires de l'injection de plasma en tant que correcteur de volume ne sont plus à utiliser de nos jours, son pouvoir antigénique constituant le principal inconvénient. On préfère l'utilisation de solutés de remplissage, iso ou hypertoniques, dont l'efficacité est certe transitoire, mais incontestable.

L'injection de plasma spécifique peut être indiquée dans la prophylaxie de certaines maladies hémolytiques acquises, dans le cadre d'une pénurie des fractions gammagolobuliniques industrielles (prophylaxie de l'iso immunisation anti D) (54).

F - Conclusions:

La préparation du plasma constitue une étape intermédiaire dans celle des autres dérivés sanguins frais. Les risques infectieux et immunologiques font que les indications essentielles de la plasmathérapie soient très limitées. Les indications secondaires ne sont que des solutions de pis-aller par pénurie d'autres préparations, pénurie qui ne devrait plus exister avec une thérapeutique transfusionnelle logique et étudiée.

La principale destinée du plasma doit-être le fractionnement.

VI - A PROPOS DE L'UTILISATION DE DERIVES SANGUINS FRAIS.

De nos jours, près de 2 500 000 dons du sang sont rendus nécessaires pour satisfaire les besoins dans la thérapeutique transfusionnelle. La demande ne cesse d'augmenter.

Sur ces dons, 85% de l'utilisation se fait avec du sang total.

La pénurie de certaines fractions plasmatiques et de certains dérivés sanguins frais est réelle. L'hémobiologiste est contraint, parmi les besoins et les urgences, de sélectionner les extrêmes et faire un choix qui sera forcément arbitraire et contesté par les utilisateurs.

L'étude des dérivés sanguins frais a montré qu'à partir d'un prélèvement unique de sang, nous pouvons traiter un anémique, un thrombopénique, un hémophile, et le plasma restant sert au fractionnement.

Cependant, les progrès de la science, la meilleure connaissance de la physiologie cellulaire et des phénomènes immunologiques, démontrent que l'utilisation de ces dérivés peut être dangeureuse par les conséquences immunologiques qu'elle entraîne. L'utilisation de dérivés érythrocytaires de phénotypes rares est rendue nécessaire avec tout le problème que pose leur conservation.

Ce double problème de réserve de l'excédent de sang et des sangs rares a incité les recherches d'un moyen de conservation à longue échéance.

TROISIEME PARTIE

GLOBULES ROUGES CONGELES

I - INTRODUCTION:

Les études concernant les effets du grand froid sur les cellules vivantes remontent à une soixantaine d'années (57). Pour le sang et particulièrement les globules rouges, les résultats satisfaisants datent de 1949 (58). La première transfusion, réussie, d'érythrocytes congelés à -79° C en présence de glycérol, remonte également à cette année par Sloviter et par Mollison et son école. Depuis, cette technique a été considérablement améliorée, et a servi à la mise au point de la congélation de moelle osseuse.

La congélation ultra rapide du sang total a été mise au point par Meryman en 1956 (61).

Pas moins de dix techniques de congélation ont été proposées: Luyet (62), Meryman (61); Mollison (63), Sloviter (64), Lorant (65) etc...

Les premières congélations pratiques en France de globules rouges remontent au mois de mai 1965 au Centre de Transfusion et de Réanimation des Armées (66). La congélation ultra rapide se fait aux températures de l'azote liquide. Les protecteurs, extra cellulaires uniquement, sont des solutions macromoléculaires de polyvinylpyrrolidone (PVP).

A l'origine, cette méthode était destinée à la congélation de sang total. Les solutés PVP en enrobant les hématies lors de la congélation et décongélation, permettaient la transfusion immédiate. Mais les espoirs ont déçu, et la méthode fut abandonnée: La rétention dans l'organisme receveur du PVP était nocive. L'utilisation de solutions de poids moléculaire plus faible, ainsi que les lavages successifs des globules décongelés améliorèrent cette technique (66).

Longtemps, le glycérol et le diméthyl sulfoxyde (DMSO), furent utilisés comme protecteurs intra-cellulaires. Actuellement, le DMSO étant reconnu toxique, toutes les méthodes de congélation ont recours au glycérol. Tout en retardant la congélation, il semble imposer à la glace qui se forme à partir de -30° C une structure vitreuse et non pas cristalline. L'hématie glycérolée, franchit sans dommage les différentes étapes de la congélation et la décongélation. La présence du glycérol à l'intérieur de l'hématie la rendra hypertonique: elle éclatera en présence des solutions physiologiques , même du plasma. Il faut donc pratiquer plusieurs lavages avec des solutions de moins en moins concentrées, et lorsque l'hématie aura retrouvé son équilibre osmotique, elle pourra être transfusée (67).

II - DEFINITIONS:

l'arrêté ministériel du 6 décembre 1972 défini le sang congelé comme suit:

"Le sang conservé par congélation est une suspension particulière de globules rouges qui ont été conservés à une température inférieure à -80° C. Les conditions de préparation, de conservation, de décongélation et le délai indiqué sur l'étiquette pour l'injection doivent être tels que 70% au moins des globules injectés à un receveur dépourvu d'anticorps antiérythrocytaires correspondants doivent être retrouvés dans la circulation après vingt quatre heures".

III - PREPARATION:

Pour des raisons pratiques, nous n'avons pas pu encore conserver les érythrocytes par congélation au centre de transfusion des Yvelines Nord. Nous décrirons les méthodes d'usage en France et en Europe ainsi qu'elles sont faites dans la littérature.

Elles se distinguent par le protecteur, (intra ou extra cellulaire, ou les deux), la réfrirgération (lente ou rapide), et la conservation à basse température ou très basse température.

Aucune de ces méthodes n'est pleinement satisfaisante. Le choix d'une méthode est fonction de la superficie et des moyens financiers de chaque centre.

Cependant, l'inconvénient majeur reste le prix de revient très élevé: 500 francs par concentré érythrocytaire congelé.

Toutes les méthodes utilisées actuellement font appel au glycérol.

A - Basses températures:

1 - Avec centrifugation:

C'est le procédé de TULLIS, le plus ancien, étudié depuis 1951 à Chelsa (68).

- Congélation: une centrifugeuse réfrigérée avec une tête centrifugeuse spéciale permet de soustraire le plasma et de procéder à la glycérolation simultanément. La glycérolation se fait en deux étapes: deux solutions la première de 250 ml à 20% de glycérol, la seconde à 50%. Ces deux solutions sont équilibrées en lactate de sodium (0,156 m/l) et en chlorure de potassium (0,004 m/l). On obtient ainsi un concentré globulaire où l'hématocrite est de 70% et la teneur en glycérol est de 50%. La congélation se fait à -80° C. Elle est lente, achevée en 7-8 heures. Le sac plastique utilisé est un sac ordinaire en chlorure de polyvinyl.

- La décongélation se fait dans un bain-marie à 37°. Elle est complète en 12 minutes.

- La déglycérolation: par lavage continu à l'aide d'un sac plastique adapté sur la tête centrifugeuse. Le lavage se fait avec 3 solutions: glycérol à 10% équilibré en lactate de sodium (0,496 m/l), et en chlorure de potassium (0,004 m/l), puis une solution titrant 0,156 m/l de lactate de sodium et 0,004 m/l de chlorure de potassium, enfin une solution saline physiologique. Au total, 3 litres de solutés de lavage, qui dure 30 minutes environ.

2 - Avec sédimentation:

C'est le procédé de HUGGINS présenté en 1964 (69). Il jouit actuellement de la plus grande faveur en France.

- Congélation: la glycérolation se fait avec une solution de glycérol à 79,2%, glucose à 8%, fructore 1%, EDTA 0,3% et eau ditillée QSP 100 ml. Le concentré globulaire est pesé, et la glycérolation se fait avec un volume de solution protectrice pour un volume de concentré globulaire.

La congélation est lente, elle se fait dans un congélateur électrique à -85° C.

- La décongélation se fait dans un bain-marie à 40° C.

- La déglycérolation: c'est là la particularité de la méthode, se base sur la cytoagglomération et la dilution. L'absence d'électrolytes de la solution protectrice entraine une cytoagglomération par dilution avec le glucose à 50%. Cette agglomération est réversible à l'addition d'une solution saline, et les globules se mettent en suspension facilement.

Elle s'effectue donc par dilution et cytoagglomération. Les solutés de lavage sont totalement dépourvus d'électrolytes: 0,500 l de glucose à 50%, 6 litres de glucose à 8% et fructose à 1%, enfin 0,250 l de sérum physiologique. Après une dernière séparation du surnageant, le concentré est prêt à l'emploi.

Ces deux méthodes sont simples, la réfrigération ne pose aucun problème, et le container est un sac plastique ordinaire. Par contre, les manipulations sont longues.

B - Très basses températures:

C'est le procédé de KRIJNEN (70).

Les étapes opératoires sont identiques aux méthodes précédentes. Les concentrés globulaires sont seuls traités.

Les paramètres technologiques différent cependant:

- Les quantités de protecteur utilisées sont trois fois moindres: La glycérolation finale est de 15 à 17%.

- La congélation et la décongélation sont très rapides, elles s'effectuent en moins de deux minutes.

- Les températures opérationnelles sont celles de l'azote liquide à -196° C.

Les lavages se font par centrifugations successives avec du sorbitol puis du sérum physiologique. Cette méthode, outre la longueur des manipulations, nécessite l'utilisation d'un container spécial métallique ou plastique possédant les qualités cryogéniques voulues.

C - Méthode mixte:

Utilisant un mélange de la technique de Tullis et celle de Krijnen.

Elle fut décrite en 1968 par Madame COMBRISSON (71) au CDTS de la Seine.

- Glycérolation: après déplasmatisation, on additionne 250 ml de glycérol à 25%. Une deuxième centrifugation permet le remplacement du surnageant par 250 ml de glycérol à 50%. Enfin une troisième centrifugation, et remplacement avec la même solution de glycérol à 50%.

- La congélation se fait à -85° C. Elle est lente, sans contrôle de vitesse. Le sac étant recouvert d'une feuille d'aluminium.

- La décongélation s'effectue en 15 minutes au bain-marie à 40° C.

- La déglycérolation utilise trois solutions successives: la première est une solution de 250 ml de glycérol à 10% et de sorbitol à 16%. La seconde, 250 ml de sorbitol à 16%, et la troisième, 250 ml de chlorure de sodium à 0,9% physiologique.

Après une dernière séparation du surnageant, le concentré peut être utilisé pour la transfusion.

IV - RESULTATS ET RENDEMENT:

Toutes les méthodes utilisées ont un rendement supérieur à 90% au moins (73). L'hémoglobine libérée par l'hémolyse est éliminée au cours des lavages lors de la déglycérolation.

La viabilité des érythrocytes décongelés est très satisfaisante. Plus de 80% sont présents 24 heures après l'injection à un receveur, et leur durée de vie est normale.

Tous les antigènes des groupes érythrocytaires sont conservés (74). L'affinité de ces globules pour l'oxygéne est comparable à celle des globules rouges frais.

Les suspensions d'hématies décongelées sont dépourvues de leucocytes et de plaquettes: c'est sans doute la raison de leur meilleure tolérance.

V - LES INDICATIONS CLINIQUES: (72 et 73)

Désormais la conservation des globules rouges à long terme est possible. Les espoirs fondés sur les piscines d'azote liquide, où seraient stockées en permanence des quantités considérables de sang disponible, ne sont pas exaucés.

Mais le sang fourni réduit aux seuls érythrocytes lavés, est un sang "propre" toujours bien toléré. Il convient à la satisfaction de toutes les indications transfusionnelles chez le nouveau-né, l'enfant, l'adulte ou le vieillard. L'expérience américaine du traitement des blessés des combats au Viet-Nam est, à cet égard, tout à fait probante (75).

Cependant, pour des raisons matérielles et financières, les indications de transfusion d'hématies décongelées doivent être limitées, actuellement, aux seuls cas pour lesquels aucune autre modalité transfusionnelle n'est possible.

A - Les groupes érythrocytaires rares:

Chez des sujets à groupe érythrocytaire rare, déjà immunisés par des transfusions antérieures ou des grossesses multiples. Ils ont fabriqué alors des anticorps contre les sangs fréquents avec lesquels ils ont été transfusés;

Pour qu'une nouvelle transfusion soit efficace, il faut que le sang injecté ne contienne pas les antigènes corespondant à ces anticorps. Nous aurons recours à une réserve de sang de groupe rare, identique ou se rapprochant le plus du groupe érythrocytaire du receveur.

B - Les anémies hémolytiques à auto-anticorps:

Les malades élaborent des anticorps actifs contre leurs propres érythrocytes, spécifiques d'un ou plusieurs antigènes du groupe érythrocytaire. Si une transfusion est rendue indispensable, il importe d'injecter des érythrocytes ne contenant pas les groupes antigéniques contre lesquels les anticorps du receveur seraient actifs. La recherche de ce groupe antigénique compatible peut nécessiter le recours à une réserve congelée.

Cette transfusion, malgré le risque d'allo-immunisation secondaire, reste nettement supérieure à l'idée qui consiste à injecter les propres globules rouges, du malade, lavées. Le lavage ne retirera jamais les groupes antigéniques incompatibles.

C - Malades porteurs de greffe ou candidats à une greffe:

L'injection d'hématies sélectionnées décongelées, où les propres hématies du malade, réduira le risque d'allo-immunisation, et de l'histo-incopatibilité.

Nous pouvons avoir recours à la congélation afin de constituer au malade sa propre réserve d'hématies.

D - Les transfusion intra-utérines, les exanguino-transfusions (76):

Lorsqu'une mère de groupe O est soupçonnée d'une iso-immunisation anti-Rhésus, son sang peut-être prélevé en début de grossesse et congelé. Si l'indication est posée, la transfusion se fera avec ce même sang décongelé.

E - Les thrombopénies et les anticorps anti leuco-plaquettaires:

Tous les thrombopéniques anémiques lorsque la transfusion est indispensable, devraient bénéficier des injections de globules rouges décongelés afin d'éviter l'apparition d'anticorps anti-leuco-plaquettaires: Les injections de concentrés plaquettaires, lors des incidents hémorragiques en rapport avec la thrombopénie, seraient alors efficaces.

VI - CONCLUSIONS:

La congélation du sang est possible; la conservation de longue durée des hématies est devenue une réalité.

Les indications théoriques de son utilisation, c'est-à-dire toutes les transfusions de globules rouges, ne peuvent pas être satisfaites actuellement pour des raisons pratiques: Tout incident ne doit pas conduire à la prescription d'hématies décongelées. Il faut savoir faire la part des choses, et ne prescrire ces hématies que lorsque l'injection de tout autre préparation devient impossible.

La conservation du sang par congélation n'est qu'une étape vers la possibilité de disposer de boîtes d'hématies lyophilisées de conservation illimitée (77) ou de préparations de cellules artificielles (78).

QUATRIEME PARTIE

CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

Le but de ce travail était d'étudier les indications transfusionnelles des dérivés sanguins frais et des érythrocytes congelés.

Après avoir brièvement exposé les méthodes utilisées, nous avons consacré un châpitre à chacun des dérivés sanguins suivants:

- Les concentrés érythrocytaires
- les concentrés plaquettaires
- les concentrés leucocytaires
- les cryoprotèines riches en facteur VIII
- le plasma
- les érythrocytes congelés

Pour chacun de ces dérivés, nous avons étudié les indications précises qui sont toutes fondées sur le désir d'être efficace et la nécessité de ne pas être dangeureux ni dans l'immédiat, ni dans le futur.

La première remarque qui nous paraît sans doute la plus importante, consiste à insister sur la possibilité d'une allo-immunisation après injection de tout produit sanguin cellulaire ou protéique.

Ce fait, auquel il faut associer la possibilité de transmission du virus de l'hépatite, nous entraîne à poser le premier principe transfusionnel suivant:

- Ne jamais injecter un produit sanguin cellulaire ou protéique si l'état du malade ne l'exige.
  Il n'y a donc aucune indication clinique de l'injection unique d'un flacon de sang ou de dérivé sanguin.

L'étude des indications de chacun des dérivés sanguins montre par élimination qu'il n'existe pas, à quelques rares exceptions près, d'indications de transfusion de sang total.

Nous pouvons résumer les indications de la façon suivante:

- Toutes les anémies, quelle qu'en soit la cause, à condition que la transfusion soit indispensable et que les précautions immunologiques soient prises. La transfusion se fera avec un nombre suffisant de concentrés erythrocytaires conservés à +4°C et ayant moins de 21 jours de conservation.

- Dans les thrombopénies: la transfusion de plaquettes ne se fera qu'en cas de force majeure, ce sont les syndromes hémorragiques en rapport avec une thrombopénie prouvée, ou en préparation pré-opératoire lorsque le péril est réel.
L'efficacité de ces transfusions de plaquettes dépend de la quantité et de la qualité de ces dernières.

- L'hémophile A sera traité lors de ses syndromes hémorragiques par la fraction protidique, cryoprécipitée, riche en facteur VIII.

- Le plasma pourra être conservé à l'état frais, congelé. Il servira lors des indications essentielles, et le surplus de plasma servira au fractionnement.

Il ressort de ces conclusions que la préparation de fractions lyophilisées serait possible facilement avec l'utilisation du plasma issu de sang total, où plusieurs constituants (érythrocytes et plaquettes) ont permis déjà de traiter d'autres malades. Ceci constitue un très grand avantage surtout lorsque nous savons qu'autrefois la préparation de ce même plasma entrainait la perte de toutes les autres fractions cellulaires.

Enfin, le rôle des transfusions de sang décongelé peut -être dégagé de l'ensemble de ce travail. Deux avantages principaux:

- Suspension d'hématies dépourvues des antigènes leucoplaquettaires et pauvres en protéines ce qui limite les dangers de l'alloimmunisation.

- Conservation de longue durée d'hématies de phénotypes variés et rares pour des malades dont le groupe est rare, ou l'est devenu, par la présence d'anticorps multiples contre les antigènes des groupes sanguins les plus fréquents.

Cette méthode se prête à l'autotransfusion qui est supérieure à tous égards car elle n'est pas immunisante par définition. Aussi à côté des grandes indications classiques (greffes ou groupes rares) il nous faut prévoir la grande extension des transfusions de ce type, puisqu' elles s'avèrent les moins dangeureuses.

CINQUIEME PARTIE

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

1 NOEL B.
Les débuts expérimentaux de la transfusion sanguine.
Transfusion 3, 287, 1960

2 P. ROUS et J. R. TURNER
Préservation of living red blood corpusculs in vitro. The transfusion of kept cells.
J. Exp. Méd. 23, 219, 1916

3 LOUTIT and MOLLISON
Advantages of a Disodium-Citrate-glucose mixture as a blood préservative.
Brit. Méd. J. 2, 744, 1943

4 LILEY A. W.
Intra utérine transfusion of foetus in haemolitic disease.
Brit. Méd. J. 2, 1107, 1963

5 J. HENRY-SUCHET, J.P. GUILLAUMIN, G. DAVID, F. PINON, A. LE BOLLOC'H-COMBRISSON, L. CHAVANNES, G. SEE et P. DELTHIL
Un cas de transfusion in utéro sur foetus en état d'anasarque suivie de la naissance d'un enfant viable.
Gyn. obst. 1964, T64, N° 2, 297

6 A. GRANJON, G. CHEVALIER, G. DAVID, F. PINON, A. LE BOLLOCH-COMBRISSON, J. CHABRUN, et A. M. COCHARD
A propos d'un cas de maladie hémolytique du nouveau-né traité par transfusion foetale in utéro
Gyn. Obst. 1965, T64, P. 289

7 J. LEWIN
Matériels plastiques pour transfusion sanguine
Transfusion II, 75, 1959

8 GIBSON J.G., REES S. B., MC MANUS T. J. and SCHEITLIN W. A.
A citrate phosphate dextrose solution for the préservation of human blood
Am. J. Clin. Path. 28, 569, 1957

9 JAEGER R.J. and RUBIN R.J.
Migration of a phthalate ester plasticizer from polyvinylchloride blood bags into stored human blood and its localization in human tissues
N. Engl. J. M. 287, 1114, 1972

10 A. COMBRISSON LE BOLLOC'H
Modifications des globules rouges pendant la conservation
Transf. 7, 217, 1964

11 BARTLETT G. R. and H. N. BARNET
Changes in the phosphate compounds of the human red blood cell during blood bank storage
J. Clin. Invest. 39, 56, 1960

12 SUGITA Y. and A. CHANUTIN
Electrophoretic studies of red cell hémolysates supplemented with phosphorylated carbohydrate intermediates
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 112, 72, 1963

13 CHANUTIN A. and R. R. CURNISH
Effect of inorganic and organic phosphates on formation of hémoglobin-phosphate complexes as determined by electrophoresis
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 120, 291, 1965

14 CHANUTIN A.
Red blood cell preservation: effect of organic and inorganic phosphate compounds on the oxygen equilibrium of human hemoglobin.
US Army Report, US Army Research and Developement Command, Washington, D. C., 30 june 1966

15 A. COMBRISSON
Solution anticoagulantes A.C.D. et C.P.D.
Rev. Fr. Transf. 14, 483, 1971

16 ANDRE R., DREYFUS. B., et A. COMBRISSON
Les transfusions de globules déplasmatisés
Bul. et mêm de la Soc. Med. des Hôp. Paris 1 et 2, 9, 1960

17 GRAY S.J. and STERLING G. K.
The tagglig of red cells and plasma protéin with radioactive chromium
J. Clin. Invest. 29, 1604, 1950

18 GIBSON J. G., PEACOCK W. C., SELIGMAN A. M. et SACK T.
Circulating red cell volume measured simultaneourly by the radio-active iron and dye method.
J. Clin. Invest. 25, 848, 1946

19 ANDRE R., COMBRISSSON A., et WATEL G.
Reconstitution de la masse sanguine dans les hémorragies graves. Aide apportée par la mesure du volume globulaire au moyen des hématies marquées Cr 51
Presse Méd. 10, 193, 1958

20 A. LE BOLLOCH-COMBRISSON
Le volume sanguin et les hémorragies graves
Proc 10th Congr. int. Soc. Blood Transf. Stockholm 1964: 1124, 1965

21 WASSERMAN K., JOSEPH J. D. et PAYERSON H. S.
Kinestics of vascular and axtra vascular protein exchange inunbled and bled dogs
Am. J. Physiol. 184, 175, 1956

22 ANDRE R., COMBRISSON A., et WATEL G.
La reconstitution de la masse sanguine dans les hémorragies graves
La Presse Médicale 66, 10, 1958

23 TIBBS D. J.
Blood volume in gastro-duodénal hémorrhage
Lancet, 271, 266, 1956

24 WATEL G.
Contribution à la thérapeutique transfusionnelle des hémorragies graves
Thèse, Paris, 1957

25 BARTH W. F., WOCHNER R. D., WALDMAN T. A. and FAHEY J. L.
Métabolism of human gamma macroglobulines
J. Cli. Invest. 43, 1036, 1964

26 BERSON S. A., YALOW R. S., SCHREIBER S. S. and POST J.
Tracer experiments with I 131 labeled human serum albumin: distribution and degradation studies
J. Cli. Invest. 32, 746, 1953

27 BEEKEN W. L., VOLWILER W., GOLD-SWORTHY P. D., GARBY L. E., REYNOLDS W. E., STOGSDILL R. and STELMER R. S.
Studies of I 131 albumin catabolism and distributions in normal young male adults.
J. Clin. Invest. 41, 1312, 1962

28 BENNHOLD H. and KALLEE E.
Comparative studies on the half life of I 131 albumin and non radio active human sérum albumin in a corse of analbuminoemia
J. Clin. Invest. 38, 863, 1959

29 SOLOMON A., WALDMANN T. A., et FAHEY J. L.
Metabolism of normal 6,6S γ globulin in normal subjects and in patients with macroglobulinaemia and multiple myeloma
J. Lab. Clin. Med. 62, 1, 1963

30 STEINFELD J. L.
Differences in darly albumin synthesis between normal men and women as maesured with I 131 labeled albumin
J. Lab. and Clin. Méd. 55, 904, 1960

31 Mc FARLANE A. S.
In vivo behavior of I 131 fibrinogen
J. Clin. Invest. 42, 346, 1963

32 AWAI M., BROWN E. B.
Studies of I 131 labeled human transferrin
J. Lab. Clin. Med. 61, 363, 1963

33 COMBRISSON A.
L'équilibre érythrocytaire des cirrhoses du foie
Le sang 9, 31, 1960

34 R. ANDRE
A propos des indications à la transfusion sanguine
Actualités en transf. Sang. Masson Ed.
Strasbourg 1966, p 167

35 C. CARRERE., P. MANNONI, F. BEAUJEAN
Nouvea protocole transfusion appliqué aux circulations extra corporelles
Congrès Transf. Nancy Mai 1973

36 DREYFUS B., COMBRISSON A., et LEPRAT J.
Aspect hématologique du panhypopituitarisme
Rev. Franç. Etudes Clin et Biol. 4, 497, 1959

37 ANDRE R., DUHAMEL G., COMBRISSON-LEBOLLOCH A.
Réactions hémodynamiques provoquées par les transfusions sanguines
Transf. 8, 197, 1965 (Congrès de Montpellier)

38 HENSCHEL A., MICKELSEN O., TAYLOR H. L. et KEYS A.
Plasma volume and thiocyanate space in famine edema and recorvery
Am. J. Physiol. 150, 170, 1947

39 CALLOWAY N. O. et MOWREY F. H.
Red blood cells as source protein for parenteral use
J. A. M. A. 152, 789, 1953

40 S. MAYER et M. M. TONGIO
Les globules déleucocytes, déplaquettisés, les globules lavés
Communication Congrès Nancy Mai 1973

41 COMBRISSON A., COCHETON J. J. et POULET J.
Les modalités de la thérapeutique transfusionnelle des thrombopénies chroniques
Sem. Hôp. Paris, 48, 1725, 1972

42 J. BERNARD et M. BESSIS
Hématologie clinique
Masson Ed. Paris 1959

43 TOUCHARD P. et GUIMBRETIERE J.
Cytopénie médicamenteuse avec anticorps actifs en présence d'acide acétyl-salycilique et d'acide niflumique
Rev. Franç. Transf. 13, 415, 1969

44 L. SCHWARZENBERG
Communication à la société nationale de transfusion sanguine
Séance du 19.12.1967.
Rev. Franç. Transf. II, 70, 1968

45 POOL J. G. and SHANON A. E.
Production of high protency concentrates of anti-hémophilic globulin in closed bag system
New Engl. J. Med. 273, 1443, 1965

46 COMBRISSON A., VERGOZ D., CHAMPCOMMUNAL A. et ANDRE R.
Préparation du facteur antihémophilique VIII concentré à usage thérapeutique: la cryoprotéine VIII
Transfusion 9, 303, 1966

47 A. NOEL, E. COUDURIER et B. NOEL
Préparation de cryoprécipité riche en facteur VIII par surfusion-congélation
Rev. Franç. Trans. 16, 115, 1973

48 SOULIER J. P. et LARRIEU M. J.
Nouvelle méthode de diagnostic de l'hémophilie. Dosage des facteurs anti hémophiliques A et B
Le sang XXIV: 3, 205, 1953

49 NILSSON I. M., BLOMBACK M. et BLOMBACK B.
Von Villebrand disease in Sweden. Its pathogenesis and traeatment
Acta. Méd. Scandinavica 164, 3, 263, 1959

50 ABEL J. J., ROUNTRELL G. and TURNER B. B.
Plasma removal with return of corpuscules
J. Pharmacol. Exp. Ther. 5, 625, 1914

51 ADAMS W. S., BLAND W. H. and BASSETT S. H.
A méthod of human plasmapheresis
Proc. Soc. Exp. Biol. Méd. 80, 377, 1952

52 GRIFOLS-LUCAS J. A.
Use of plasmapheresis in blood donors
Brit. Med. J. 1, 854, 1952

53 A. COMBRISSON-LE BOLLOC'H, J. C. PECHERE et R. ANDRE
La plasmaphérèse (technique, résultats. Traitement du syndrôme d'hyperviscosité des dysglobulinémies)
Transfusion 9, 139, 1966

54 G. POTRON, Ch. QUEREUX et Cl. FREAL
Prophylaxie de la maladie Rh par le plasma anti D
Rev. Franç. Transf. 16, 11, 1973

55 CHATAING B
Essai de conservation par congélation et d'utilisation thérapeutique de globules blancs de leucémie myéloïde chronique.
Rev. Franç. Transfusion 13, 303, 1970

56 SCHWARZENBERG L., MATHE G., AMIEL J. L., CATTAN A., SCHNEIDER M. et SCHLUMBERGER J. R.
Le traitement symptomatique de l'agranulocytose par les transfusions de globules blancs
Presse Méd. 74, 1057, 1966

57 MICHAELIS L.
Med Klin 1, 202, 1905

58 LUYET B. J.
Bio dynamica 6, 217, 1949

59 SLOVITER H. A.
Nature 169, 1013, 1952

60 MOLLISON P. L. et SLOVITER H. A.
Lancet 2, 862, 1951

61 MERYMAN H. T. et HOLLINGS J. W.
Proc. 6 th Congress Ind. Soc. Blood Transfusion, Boston 3-5 sept 1956, Bâle, S. Karger 1958, p 317

62 LUYET B. J. et GEHENIO P. M.
Boston 3-5 sept. 1956 Bâle,. S. Karger 1958 p 330

63 JONES N. CH., MOLLISON P. L. et ROBINSON M. A.
Boston 3-5 sept 1956 Bâle, S. Karger 1958 p 309

64 SLOVITER H. A.
Am. J. Méd. Sci. 231, 437, 1956

65 LORANT A., LORANT G. J., ANGRIST A et KORPMAN R.
J. Clin. Invest. 32, 1005, 1953

66 EYGONNET J. P., THIERCELIN P. C., SAINT-BLANCARDJ., GINESTE J., FORT V., MONTEUX J., BERROCHE L. et MAUPIN B.
Etudes préliminaires sur la conservation de sang à la température de l'azote liquide
Transfusion 9, 73, 1965

67 MAUPIN B. avec la collaboration de BERROCHE L. Y., EYGONNET J. P., FORT V., GINESTE J, MIGNE J., MONTEUX J., SAINT-BLANCARD J. et THIERCELIN P.
Les progrés réalisés dans la conservation du sang, notamment par la congélation.
Rev. Fr. Transf. 12, 25, 1969

68 TULLIS J. L., KETCHEL M. M., PYLE H. M., PENELL R. B., GIBSON J. G., TINCH R. J.
Studies on the in vivo survival of glycerolized and frozen human red blood cells
J. A. M. A. 168, 399, 1958

69 HUGGINS C. F.
Frozen blood: théory and practice
J. A. M. A. 193, 941, 1965

70 KRIJNEN H. W., J. J. Fr. M de WIT, KUIVENHOVEN A. C. J. and REYDEN G. V. D.
Freezing of red cells with liquid nitrogen
Proc. 10 th Congr. Int. Blood Transf. Stockholm 1964-1965 page 683-687 et 687-691

71 COMBRISSON A., LAFOREST J., CHAMPCOMMUNAL A., et PANNETIER C.
Conservation des hématies par congélation en présence de glycérol et de Sorbitol
Rev. Franç. Transf. II, 7, 1968

72 MAUPIN B., BERROCHE L., FORTV, MONTEUX J et EYGONNET J. P.
Indications cliniques du sang congelé
Rev. Franç. Transf. 11, 397, 1968

73 A. COMBRISSON
Les globules rouges conservés par congélation à basse température
Rev. Prat. 22, 1479, 1972

74 COMBRISSON A., GERBA, LIBERGE G., SEGER J., LOPEZ M
CHAMPCOMMUNAL A et SALMON Ch
Technique de conservation des hématies-tests par congélation à -85° C
Rev. Franç. Transf. 13, 25 et 37, 1970

75 MOSS G. S., VALERI C. R. et BRODINE Ch E.
Clinical expérience with the use of frogen blood in combat Casualties
New Eng J. Méd. 278, 747, 1968

76 JOSEPHSON A. M., PERT J. H., ROWE A. W. et TULLIS J.
Communications personnelles. Internationnal Working Conférence on the freeze preservation of blood
Londres 28 novembre-1er décembre 1967

77 TULLIS J. L.
Transfusion Editorial.
Transfusion (Philadelphia) 3, 155, 1963

78 THOMAS MING SWI CHANG
Artificial Cells
Charles C. Thomas Publishern. Springfield Illinois U.S.A. 1972, 207 pager

TABLE DES MATIERES

1ère partie: Matériels et méthodes générales.

I Container p 9
II Solution anti-coagulante p 9
III Prélèvement p 10
IV Conservation p 11

2ème partie: Dérivés sanguins frais.

I Concentrés érythrocytaires p 12
A Définition p 12
B Préparation et résultats p 12
C Conservation p 13
D Rendement p 14
E Indications cliniques p 15
Cas particuliers
F Conclusions p 25

II Concentrés plaquettaires p 27

A Définition p 27
B Préparation et résultats p 27
C Conservation p 27
D Rendement p 28
E Indications cliniques p 28
F Conclusions p 30

III Concentrés leucocytaires p 31

A Définition p 31
B Préparation p 31
C Indications cliniques p 31
D Conclusions p 32

IV Les cryoprécipités riches en Facteurs VIII, antihémophiliques A. p 33

A Définitions p 33
B Préparation p 33
C Conservation p 33
D Rendement et résultats p 33
E Indications cliniques p 33
F Conclusions p 35

V Le plasma p 37

A Définition p 37
B Préparation P 37
C Conservation p 38
D Utilisation p 39
E Indications cliniques p 39
F Conclusions p 41

VI A propos de l'utilisation des dérivés sanguins frais p 42.

3ème partie: Globules rouges congelés.

I Introduction p 43
II Définition p 44
III Préparation p 44
IV Résultats et rendement p 47
V Les indications cliniques p 48
VI Conclusions p 49

4ème partie: Conclusions p 51

5ème partie: Bibliographie p 54

VU , LE PRESIDENT :

H . BRICAIRE

VU , LE DOYEN :

F . DELBARRE

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
LE RECTEUR DE L'ACADEMIE DE PARIS

R . MALLET